2012 年 8 月作成（第 1 版）

食物アレルギー物質検出キット **アレルゲンアイ®** イムノクロマト Allergeneye® Immunochromato	**甲　殻　類**　【加　熱】 **取扱説明書**

※検査サンプルの加熱抽出時間が、1 時間から **10** 分に大幅に短縮されました。

本キットは、甲殻類（えび・かに等）のトロポミオシンに対するモノクローナル抗体を用いた金コロイド免疫クロマト法により、食品中に含まれる甲殻類タンパク質を検出する検査キットです。
本キットは、原材料から加熱された加工食品まで幅広い食品に適用できます。

検査にあたっては本説明書をよく読み、操作方法に従い正しく検査してください。

本キットは食品中の特定原材料を検出するための研究用試薬であり、食物アレルギー発症の有無を診断する臨床検査薬などではありません。アレルギー発症には個人差があり、アレルゲンの摂取量とアレルギー症状の相関は不明です。

キットの内容

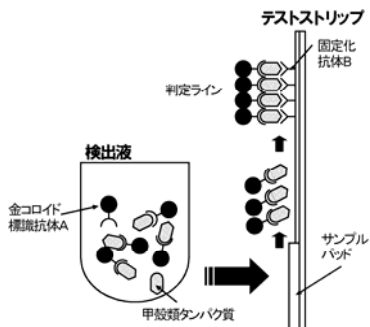
包装単位：20 テスト、5 テスト／キット

	名　　称	20 テスト	5 テスト
A	テストストリップ（透明プラ袋個包装、板状乾燥剤入り）	20 本	5 本
B	検出液（凍結乾燥品）	20 本	5 本
C	検体抽出液		
	抽出液①（10 倍濃縮）	50mL×1 本	12.5mL×1 本
	抽出液②（10 倍濃縮）	50mL×1 本	12.5mL×1 本
D	取扱説明書	1 枚	1 枚

目的・性能

食品中に含まれる甲殻類タンパク質（トロポミオシン）の検出
検査試料中の甲殻類タンパク質を 100ng/mL 以上（被検食品当たりに換算した場合約 2ppm 以上）の濃度で検出可能
ただし、甲殻類の品種によっては、感度が変動することがあります。

原　　理

1. 検出液に検査試料を添加します。
2. 検査試料中に甲殻類タンパク質が含まれる場合、金コロイド標識抗体 A と複合体を形成します。
3. この溶液に、テストストリップを含浸すると、この複合体がテストストリップ上を移動し、固定化抗体 B に捕捉され、赤紫色の判定ラインが確認されます。
4. 甲殻類タンパク質が含まれない場合は、複合体が形成されないため、判定ラインは確認されません。

操作方法 1:検査試料の調製

1. 準備するもの（例）

- メスシリンダー
- メスピペット
- 蒸留水
- サンプリング用ビニール袋
- フードプロセッサーまたはミキサー
- ポリプロピレン製遠沈管（50mL）
- ウォーターバス（約 100℃加熱用）
- 遠心分離機
- 漏斗、ろ紙
- マイクロピペッター（100 µL が分取可能なもの）
- タイマー

※実験器具からのコンタミネーションによりアレルゲン混入の判定が困難にならないよう、使用する実験器具は中性洗剤で洗浄後、アルカリ洗剤などで漬け置き（1晩）し、十分に水道水で洗った後、蒸留水ですすいでください。

2. 検体抽出液の準備

(1) 使用前に必ずキットを室温に戻してください。

※テストストリップや検出液は、袋から取り出さず、そのまま室温に戻してください。

(2) 「C:検体抽出液」を調製します。

※蒸留水 8 溶に対して、「抽出液①（10 倍濃縮）」、「抽出液②（10 倍濃縮）」各 1 容を加えてください。

例）20mL 調製の場合： 蒸留水 16mL に「抽出液①（10 倍濃縮）」2mL、「抽出液②（10 倍濃縮）」2mL を加える。

※泡立ちますので、なるべく泡立たせないように希釈してください。

※「抽出液①」は保管中に沈殿を生じることがあります。その場合は、ぬるめのお湯で容器ごと温めて沈殿を完全に溶かしてください。お湯で温めた後は、室温程度に冷やしてから検査に使用してください。

3. 検査試料の調製

(1) 検査サンプルを均一になるようにフードプロセッサーやミキサーなどで粉砕・混合します。

(2) 均一にした検査サンプルを 50mL の遠沈管に 1g 量り取り、検体抽出液を 19mL 加えます。

(3) 十分に撹拌した後、沸騰水浴中で **10 分間**加熱します（加熱中に 5 分に 1 回程度攪拌してください。20 分程度加熱しても検査結果に影響はありません）。加熱後、流水などで室温程度に冷却します。

(4) 3,000×g で 20 分間遠心分離（室温）し、上清を分取します。

(5) 上清をろ紙でろ過して**検査試料**とします。検査試料はそのまま使用します。

操作方法 2:テストストリップによる検査

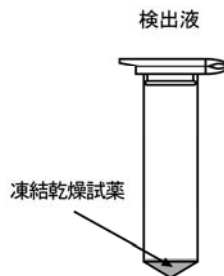
テストストリップや検出液を冷蔵保存している場合には、袋のまま室温に戻してから使用してください。

(1) チャック付きアルミ袋から検出液を取り出します。

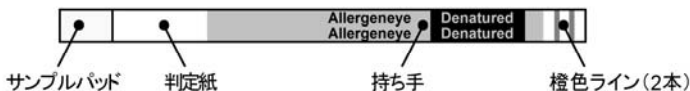
※検出液は使用直前に袋から取り出し、取り出した後は、きちんとチャックを閉めてください。

(2) 検出液のふたを開け、検査試料を<u>100µL</u>添加し、十分に振りまぜ、凍結乾燥試薬を均一に溶解します。

※凍結乾燥試薬がチューブのふたや壁面に付着している場合は、落としてからサンプルを添加してください。

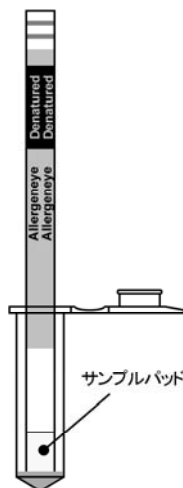
※凍結乾燥試薬の形状がチューブによって異なっている場合がありますが、試薬量は均一ですのでそのまま使用してください。

(3) テストストリップを透明プラ袋から取り出します。

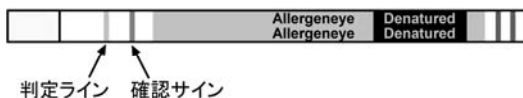
※テストストリップは、使用直前に袋から取り出してください。

※判定紙部分は、フィルムで保護されておりませんので、テストストリップは 2 本の橙色のラインのある持ち手部を持ち、判定紙部分には触れないように注意してください。

(4) テストストリップを(2)のチューブに入れ、そのまま静置します。

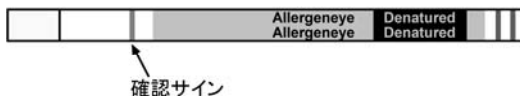
※サンプルパッドの先端がきちんとチューブの底につくようにして入れてください。

(5) <u>20 分後</u>に、テストストリップを取り出し判定します。

※ピンク色の確認サインが発色していることを確かめてから判定してください。

判　　定

●陽性：赤紫色の判定ラインとピンク色の確認サインの 2 本のラインが確認されます。

検査試料中に 100ng/mL 以上の甲殻類タンパク質（トロポミオシン）が含まれています。被検食品当たりに換算した場合約 2ppm 以上に相当します。

※ラインの着色の濃さにかかわらず、赤紫色の判定ラインが確認できた場合は、陽性と判定してください。

●陰性：ピンク色の確認サインのみが発色し、判定ラインは確認されません。

検査試料中には、甲殻類タンパク質（トロポミオシン）が含まれていないか、含まれている場合でも甲殻類タンパク質が検出感度未満であると推測されます。

●再検査：確認サインが発色しません。

確認サインが発色しなかった場合は、正しく検査が行われなかった可能性がありますので、判定を保留し、新しいテストストリップ及び検出液で再度検査を行ってください。

判定上の注意

(1) 甲殻類以外の特定原材料（卵、牛乳、小麦、そば、落花生）に対しては、交差反応を示しません。

(2) 甲殻類の内、日本標準商品分類で定める、「7133 えび類（いせえび・ざりがに類を除く）」、「7134 いせえび・うちわえび・ざりがに（ロブスター等）類」及び「7135 かに類」、「7136 その他の甲殻類」に反応を示します。

(3) 正しい判定結果を得るために、テストストリップをチューブに挿入してから<u>20 分後に判定し、それ以降は判定を行わないでください</u>。検査試料中に検出感度未満の低濃度の甲殻類タンパク質が含まれている場合や非特異的な反応などで、時間が経過すると判定ラインが着色してくる場合があります。

(4) 粘性の高い食品や着色程度の高い食品では正確に判定できない場合がありますので、適宜希釈して検査を行ってください。

(5) <u>右図の様にラインの全体が着色せず、一部のみが着色した場合は、判定を保留し、新しいテストストリップ及び検出液で再度検査を行ってください。</u>

使用上または取扱い上の注意

1. 一般的な注意
    (1) 本キットは食品中に含まれる甲殻類タンパク質(トロポミオシン)を検出するための定性試薬ですので、他の用途には使用しないでください。
    (2) 使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。(使用期限は外箱及び透明プラ袋等に表示されています。)
    (3) 本キットは直射日光や熱源を避け、室温で検査してください。
    (4) 廃棄方法は自治体の条例に従ってください。テストストリップ(PET など)及び乾燥剤(パルプ)は、焼却処分が可能です。

    ※素材:透明プラ袋(PE)、アルミ袋(PE など)、検出液チューブ(PP)、検体抽出液容器(本体 PE、ふた PP)、ラベル(PET)、外箱・中仕切り(紙)、取扱説明書(紙)

2. 操作上の注意
    (1) 沸騰水で加熱しますので、取扱いは耐熱手袋などを使用し、やけどには十分注意して作業してください。
    (2) 加熱に使用する機器の空焚きに十分注意してください。
    (3) 微量でも手に付いたアレルゲンが混入するおそれがあるため、検査にあたっては、手をきれいに洗ってください。
    (4) テストストリップの入った袋は室温に戻したあと使用直前に開封してください。また、袋が破損している場合には、誤った結果となるおそれがありますので、そのテストストリップは使用しないでください。
    (5) 検体の吸収が悪くなる場合がありますので、サンプルパッドには手を触れないでください。
    (6) 使用前に判定紙がぬれてしまうと正しく判定できません。その際は、使用を中止し、新しいテストストリップを用いて検査してください。
    (7) サンプル中の甲殻類タンパク質濃度がきわめて高濃度の場合、逆に判定ラインが出なくなる現象(プロゾーン現象)が起こる場合があります。プロゾーン現象が疑われる場合には、検査試料を検体抽出液で 10 倍希釈して再検査を行ってください。

3. 危険防止上の注意事項
    (1) 本キットの試薬類は、皮膚や粘膜、衣類等に付けないでください。
    (2) 「抽出液②(10 倍濃縮)」には、アジ化ナトリウムが含まれています。廃棄の際には、大量の水と一緒に流してください。
    (3) 誤って試薬が目や口に入った場合には、直ちに水道水で十分に洗い流す等の応急処置を行い医師の手当てを受けてください。

4. その他
    (1) 本キットによる判定の結果は、製造記録や他の測定方法なども合わせ総合的に評価してください。
    (2) 本キットの検査結果を使用した結果として発生した損害及び損失については、責任を負いません。

貯法・使用期限

1. 貯　　法　高温多湿を避けて室温(1～30℃)で保存してください。
2. 使用期限　外箱及び透明プラ袋等に表示

包装単位

20 テスト、5 テスト

発売元／お問い合わせ先:プリマハム株式会社 基礎研究所　TEL:029-842-4333　FAX:029-842-5216